

**UJI AKTIVITAS SENYAWA FLAVONOID TOTAL DARI *GYNURA SEGETUM*
(*LOUR*) TERHADAP PENINGKATAN ERITROSIT DAN PENURUNAN
LEUKOSIT PADA MENCIT (*MUS MUSCULUS*)**

Oleh:

Dr. Agus Sundaryono

Program Studi Kimia JPMIPA FKIP Universitas Bengkulu

Email: sundaryono_2005@yahoo.fr

ABSTRAK

Gynura segetum (*Lour*) Merr yang dikenal dengan tanaman daun dewa merupakan tanaman obat keluarga (TOGA) yang tumbuh liar, seluruh bagian berkhasiat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas senyawa flavonoid total yang terkandung di dalam *G. segetum* terhadap peningkatan jumlah eritrosit dan penurunan jumlah leukosit. Daun *G. segetum* dibersihkan, dikeringkan, dan dihaluskan hingga berbentuk serbuk, kemudian dimaserasi dengan menggunakan etanol teknis, selanjutnya diekstrak dengan menggunakan n-heksan. Fraksi etanol dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak etanol daun *G. segetum* diuji aktivitasnya untuk meningkatkan jumlah eritrosit dan menurunkan jumlah leukosit. *Mus musculus* jantan dengan umur 8 minggu dibagi dalam 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol (Po) hanya mendapat aquades dengan volume yang seimbang pada berat badan (bb) dan kelompok perlakuan (P₁), (P₂) dan (P₃), berturut-turut diberikan secara oral ekstrak etanol daun *G. segetum* dengan dosis setara 185,2 mg/kgbb (P₁), dan dosis setara 277,8 mg/kgbb (P₂) serta diberikan secara oral rifampicin dosis setara 450 mg/kgbb (P₃). *M. musculus* yang diberi perlakuan (Po), (P₁), (P₂), dan (P₃) diambil darahnya melalui ekor, kemudian diamati jumlah eritrosit dan leukosit. Pemberian ekstrak etanol daun *G. segetum* yang di dalamnya terkandung senyawa flavonoid total pada *M. musculus* dengan dosis setara 185,2 mg/kgbb dan dosis 277,8 mg/kgbb mampu menaikkan jumlah eritrosit dan menurunkan jumlah leukosit.

Kata kunci : *Gynura segetum*, daun dewa, flavonoid, eritrosit, leukosit.

PENDAHULUAN

Berkembangnya tren gaya hidup *back to nature*, telah meningkatkan popularitas obat tradisional yang telah dikenal secara turun menurun untuk memenuhi kebutuhan kesehatan. Salah satu obat tradisional untuk pengobatan kanker telah banyak dilakukan baik di negara maju maupun berkembang. Pengobatan kanker menggunakan tanaman obat yang di dalamnya terandung senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid memiliki kemampuan menangkap radikal bebas yang dapat menyebabkan kanker. Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang pada umumnya banyak terdapat pada tumbuhan berpembuluh (Saputra, 2000). Tanaman daun dewa (*Gynura segetum* (*Lour*) Merr) merupakan tanaman tahunan pada umumnya ditanam di pekarangan sebagai tanaman obat keluarga (TOGA), seluruh bagian tanaman berkhasiat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit (Hembing, 2005). Tanaman ini tergabung dalam kuartet anti kanker, yaitu : daun dewa yang mengandung *alkaloid, flavonoid, saponin dan tannin*;

kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) yang mengandung *curcumol* dan *curdione*; tapak dara (*Catharantus roseus*) yang mengandung *vinblastin*, *vinkristin*, *vinkadiolin*, *karantin*, dan benalu (*Denrophthoe pentandra*) yang mengandung *quesrsitin* (Puspita, 2005).

Kanker terjadi pada pertumbuhan sel-sel normal melalui proses kesalahan genetika yang berubah menjadi sel-sel ganas yang berproliferasi dengan cepat. Kanker bisa terjadi pada semua jaringan misalnya pada sel-sel darah. Sel-sel darah akan mengalami pembelahan, secara terus menerus yang sewaktu-waktu sel darah mengalami pertumbuhan yang meningkat. Sel-sel darah yang sering membelah maka semakin besar terjadinya suatu kesalahan, tidak terdeteksi, yang dapat menyebabkan terjadinya pertumbuhan abnormal, sehingga adanya perubahan jumlah sel-sel darah yaitu eritrosit dan leukosit. Pertumbuhan dan perkembangan pada sel-sel darah dapat berubah menjadi sebuah sel ganas. Keganasan sel-sel darah merupakan salah satu jenis penyakit serius pada saat sekarang yaitu Leukimia karena sifat keganasanya yang menyebabkan pada kematian. Penelitian ini menguji ekstrak daun dewa *G. segetum* yang di dalamnya terdeteksi mengandung flavonoid terhadap jumlah eritrosit maupun leukosit pada *Mus musculus*.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat-alat yang digunakan: gelas kimia (2 L), corong pisah, gunting, pipet tetes, plat tetes, erlenmeyer 100 ml, gelas ukur 25 mL, kertas saring, blender, corong kecil, *rotary evaporator*, neraca analitik, *hot plate*, kandang *M. musculus*, pisau, haemositometer, 1 set alat gavage, mikroskop, counter dan kamera.

Bahan-bahan yang digunakan : daun *G.segetum*, etanol teknis, n-heksan, pita Mg, *M. musculus* jantan berumur 8 minggu, HCl pekat, larutan Hayem (NaCl 1 g + Na₂SO₄ 5 g + HgCl₂ 0,5 g + aquadest 200 mL), larutan truk (asam asetat 13 mL + gentiana violet 21 mL + akuades 100 mL), daun jambu biji (*Psidium guajava*), rifampicin.

Isolasi Flavonoid dari *G. segetum*

Sebanyak 300 g *G. segetum* segar dibersihkan dengan air yang mengalir, dikeringkan dan dipotong kecil-kecil, kemudian diserbuk. Serbuk ini dimaserasi dengan etanol selama 24 jam. Filtrat dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga volumenya menjadi sepertiga, kemudian diekstraksi dengan n-heksan dalam corong pisah, lapisan atas fraksi non polar dan lapisan bawah fraksi polar. Fraksi polar diuji kandungan senyawa flavonoidnya dengan pereaksi HCl pekat dan

serbuk Mg, terbentuknya warna merah menunjukkan positif terdapatnya flavonoid. Fraksi polar dipekatkan dengan *rotary evaporator* yang merupakan senyawa flavonoid total.

Perlakuan pada Hewan Uji

M. musculus yang berumur 8 minggu dikelompokkan menjadi 4 kelompok, yaitu kontrol, kelompok perlakuan pemberian daun *G. segetum* dengan dosis setara 185,2 mg/kgbb dan 277,8 mg/kgbb, serta kelompok perlakuan pemberian rifampicin dengan dosis 450 mg/kgbb. Pengelompokkan disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1.

Dosis pemberian ekstrak etanol daun *G. segetum* dan rifampicin pada setiap kelompok

Kelompok	Dosis efektif ekstrak flavonoid (mg/kgbb)	Dosis efektif rifampicin (mg/kgbb)	Jumlah hewan (ekor)
Kontrol (P0)	0	0	5
Perlakuan 1 (P1)	185,2	0	5
Perlakuan 2 (P2)	277,8	0	5
Perlakuan 3 (P3)	0	450	5

Pemberian perlakuan secara oral dilakukan dengan “gavage”. Kelompok kontrol hanya diberi aquades, setiap pemberian dilakukan 2 kali gavage, dengan rentang waktu gavage ke 1 dan 2 selama 2 hari. Setiap akan dilakukan gavage, berat badan *M. musculus* ditimbang untuk mengetahui berapa ekstrak daun *G. segetum* dan rifampicin yang harus diberikan (Rumanta, 1994).

Pengamatan Eritrosit

Pengamatan eritrosit menggunakan haemositometer yang terdiri dari dua komponen yaitu kamar hitung (*counting chamber*) dan pipet pengencer. Kamar hitung yang dipakai merupakan tipe “*improved chamber*” dan pipet pengencer tipe Thomas. Larutan yang digunakan adalah Hayem sebagai larutan fisiologis yang terdiri dari NaCl 1 g, Na₂SO₄ 5 g, HgCl₂ 0,5 g dan akuades 200 mL, larutan fisiologis ini digunakan untuk mengencerkan darah sehingga darah bisa dihitung karena harus bersifat isotonis dan fiksatif terhadap eritrosit. Ekor *M. musculus* dilukai dengan pisau steril sehingga mengeluarkan darah. Tetes darah pertama dibuang, tetes darah berikutnya dihisap dengan haemositometer sampai batas 0,5 atau 1. Hisap larutan pengencer sampai angka 101, suspensi dikocok sampai benar-benar homogen (larutan menjadi berwarna merah di dalam tabung). Kamar hitung dan gelas penutup dibersihkan, kemudian gelas penutup dipasang di atas kamar hitung sedemikian rupa sehingga apabila dibalik gelas penutup tidak terjatuh. Tetes pertama suspensi darah dibuang terlebih dahulu, setelah itu tetes darah berikutnya

ditetaskan pada bagian pinggir gelas penutup. Dihitung jumlah eritrosit dalam 5 kotak kecil pada kotak besar di tengah, selanjutnya jumlah eritrosit dihitung dengan rumus :

$$\text{Jumlah sel darah merah (DM)} = \text{Ne} \times p \times 50$$

Keterangan : Ne = Jumlah eritrosit dalam satu kotak menengah

p = Pengenceran (Kadir, 2002)

Pengamatan Leukosit

Penghitung leukosit digunakan pipet pengencer yang mempunyai batang pengaduk dengan skala 11. Bagian yang mengembang 10 kali bagian yang berskala. Sebagian larutan pengencer dipakai larutan yang mempunyai kemampuan untuk menghemolisis sel darah merah dan berisi pewarna anilin (untuk mewarnai inti sel), serta larutannya harus tetap bening. Larutan yang digunakan adalah larutan truk dengan komposisi yaitu asam asetat 13 mL, gentiana violet 21 mL dan ditambah akuades 100 mL. Leukosit dihitung dengan cara yang sama pada penghitungan eritrosit.

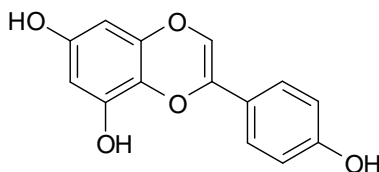
$$\text{Jumlah sel darah putih (SDP)} = \text{Ne} \times p \times 2$$

Keterangan : Ne = Jumlah leukosit dalam 4 kotak besar di pinggir

p = Pengenceran (Kadir, 2002)

HASIL DAN PEMBAHASAN

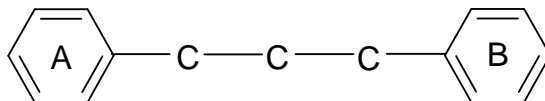
Senyawa flavonoid dan isoflavonoida banyak dinyatakan sebagai anti kanker, sebagai contoh genistein. Penghambatan sel kanker oleh genistein ini melalui mekanisme penghambatan pembelahan sel akibat penghambatan dan pembentukan membran sel, khususnya penghambatan pembentukan protein yang mengandung tirosin (Sujatmoko, 2002).



Gambar 1. Genistein

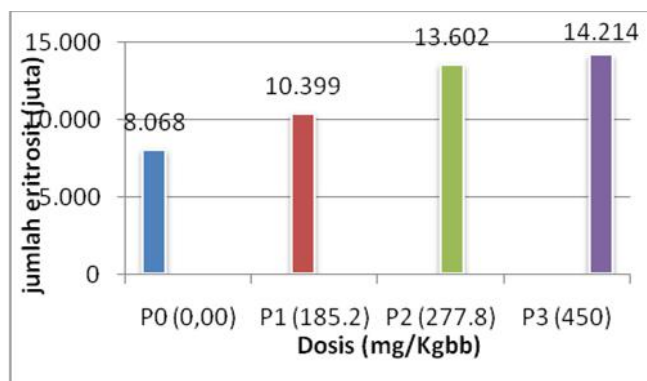
Percobaan secara in-vitro beberapa senyawa flavonoid termasuk kuersetin menghambat aktivitas hialurodinase, sehingga spermatozoa tidak dapat menembus kumulus menjelang fertilisasi (Puspita, 2005). Flavonoid merupakan golongan metabolit sekunder yang terbesar dalam dunia tumbuhan dan termasuk golongan polifenol. Senyawa flavonoid adalah senyawa

polifenol yang mempunyai 15 atom karbon (Gambar 2), terdiri dari 2 cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai yang terdiri dari 3 atom karbon yang juga dapat ditulis sebagai sistem C6 – C3 – C6, adapun kerangka dasar flavonoid adalah : (Robinson, 1995)



Gambar 2. Kerangka dasar flavonoid

Kandungan kimia dari tumbuhan daun dewa pada spesies *G. segetum* mengandung saponin, minyak atsiri, flavonoid, etanol, alkohol, tanin, senesfilin dan alkaloid (Priadi, 2004). Identifikasi senyawa flavonoid pada daun dewa dilakukan dengan uji sianoda. Hasil uji senyawa flavonoid secara kualitatif (+), dengan pembandingan daun jambu biji (*Psidium guajava*) (+++) (Yolanda, et al., 2006). Pemberian ekstrak dan *G. segetum* sebanyak dua kali dengan interval waktu 2 hari memberikan pengaruh terhadap jumlah eritrosit pada *M. musculus*. Pengaruh kenaikan jumlah eritrosit disajikan pada Gambar 3.

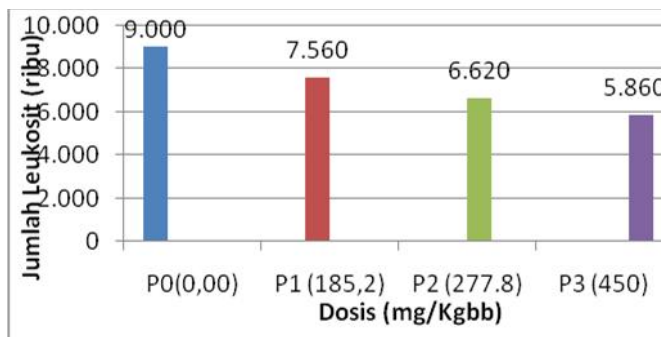


Gambar 3. Jumlah rata-rata eritrosit pada pemberian perlakuan secara oral dengan akuades (P₀), dengan ekstrak etanol daun dewa dengan dosis 185,2 mg/kgbb (P₁), dosis 277,8 mg/kgbb (P₂) dan Ramfapicin dosis 450 mg/kgbb (P₃)

Berdasarkan Gambar 4. dapat dilihat bahwa jumlah eritrosit *M. musculus* yang diberi perlakuan secara oral dengan ekstrak etanol daun dewa mengalami kenaikan bila dibandingkan pemberian akuades (kontrol). Jumlah eritrosit normal *M. musculus* berkisar antara 8,7-10,5 juta (Sukardiman, 1997), berdasarkan pengukuran pada penelitian jumlah eritrosit pada *M. musculus* kontrol berkisar antara 7,9-8,2 juta. Pemberian ekstrak daun dewa yang di dalamnya terkandung senyawa flavonoid dengan dosis setara 277,8 mg/kgbb memberikan kenaikan jumlah eritrosit rata-rata sekitar 13.602 juta, sedangkan dengan dosis setara 185,2 mg/kgbb memberikan

kenaikan jumlah rata-rata eritrosit sekitar 10.399 juta. Dengan demikian kenaikan jumlah eritrosit sebanding dengan besarnya dosis. Analisis chi kuadrat jumlah eritrosit dari setiap perlakuan pemberian secara oral ekstrak etanol *G. segetum* X^2 hitung $354,827 > X^2 (0,95) (8) = 16,507$, dengan demikian pemberian ekstrak etanol daun *G. segetum* yang di dalamnya terkandung senyawa flavonoid memberikan pengaruh nyata terhadap kenaikan jumlah eritrosit, meskipun kenaikan jumlah eritrosit lebih rendah dari pemberian secara oral obat rifampicin. Rifampicin merupakan antibiotik antistafilokok kuat yang telah digunakan untuk mengobati stafilokok. Rifampicin memiliki banyak khasiat melawan banyak mikrobakteri.

Pemberian ekstrak etanol daun *G. segetum* dengan secara oral sebanyak dua kali dengan interval waktu 2 hari memberikan pengaruh terhadap jumlah leukosit pada *M. musculus*. Penurunan jumlah leukosit disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Jumlah rata-rata leukosit pada pemberian perlakuan secara oral dengan akuades (P_0), dengan ekstrak etanol daun dewa dengan dosis 185,2 mg/kgbb (P_1), dosis 277,8 mg/kgbb (P_2) dan dan Ramfapicin dosis 450 mg/kgbb (P_3)

Berdasarkan gambar 2. jumlah leukosit *M. musculus* yang diberi perlakuan secara oral dengan ekstrak etanol daun *G. segetum* mengalami penurunan bila dibandingkan kontrol. Pemberian perlakuan secara oral ekstrak etanol daun *G. segetum* dengan dosis setara 277,8 mg/kgbb, mampu menurunkan jumlah leukosit dengan jumlah rata-rata 6,620 ribu lebih besar dibandingkan dengan dosis setara 185,2 mg/kgbb dengan jumlah rata-rata sekitar 7,560 ribu, dengan demikian besarnya penurunan jumlah leukosit sebanding dengan besarnya pemberian dosis. Analisis chi kuadrat jumlah leukosit dari setiap perlakuan pemberian secara oral ekstrak *G. segetum* X^2 hitung $190,5164 > X^2 (0,95) (8) = 16,507$, dengan demikian pemberian ekstrak etanol daun *G. segetum* yang di dalamnya terkandung senyawa flavonoid memberikan pengaruh

nyata terhadap penurunan jumlah leukosit, meskipun penurunan jumlah leukosit tidak lebih rendah dibanding pemberian secara oral obat rifampicin

Kenaikan jumlah eritrosit dan penurunan jumlah leukosit setelah pemberian perlakuan secara oral dengan ekstrak etanol daun *G. segetum* disebabkan karena adanya kerja flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang berperan sebagai antioksidan, yang di dalam sel darah dapat bertindak sebagai penampung radikal hidroksil dan superoksida sehingga melindungi lipid membrane. Antioksidan dapat melindungi suatu zat tertentu (khususnya yang berlemak) dari serangan oksidasi termasuk serangan dari radikal bebas (Made Astawan, 2004). Radikal bebas di dalam sel-sel tubuh diproduksi dalam kegiatan metabolisme sehari-hari untuk memperoleh energi dari protein, lemak dan karbohidrat. Di dalam tubuh pembentukan radikal bebas terjadi pada membran plasma yang banyak mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk (*polyunsaturated fatty acids* = PUFA) yang secara alami mudah sekali teroksidasi menghasilkan berbagai senyawa radikal bebas. Proses oksidasi tersebut menyebabkan kadar asam lemak esensial pada membran plasma menjadi berkurang dan permeabilitas membran terganggu sehingga radikal bebas menjadi makin mudah menerobos masuk ke dalam sel dan mengakibatkan berbagai kerusakan, seperti merusak lisosom, Inti sel dan DNA yang dapat memicu timbulnya kanker.

Di dalam tubuh terbentuknya radikal bebas yang bersifat sebagai prooksidan (pemacu oksidasi) selalu diimbangi dengan terbentuknya antioksidan (penangkal oksidasi). Untuk melawan daya oksidatif radikal bebas yang merusak sistem biologis, di dalam tubuh setiap organisme terdapat sejumlah enzim yang bertindak sebagai penangkal radikal bebas yaitu superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (Made Astawan, 2004).

Di dalam eritrosit radikal bebas yang paling banyak adalah radikal bebas oksigen (misalnya superoksida, hidroksil radikal, hidrogen peroksida) yang dapat merusak komponen biokimia sel seperti asam deoksiribonukleat (DNA), asam ribonukleat (RNA), karbohidrat, lemak, protein dan mikronutrien (vitamin dan mineral). Superoksida di dalam sel eritrosit terbentuk melalui autooksidasi hemoglobin menjadi methemoglobin (kurang lebih 3 % hemoglobin dalam darah manusia diperhitungkan akan mengalami autooksidasi setiap harinya). Superoksida terbentuk melalui kerja enzim seperti sitokrom P450 reduktase dan xantin oksidase. Superoksida secara spontan mengalami dismutasi sehingga terbentuk H_2O_2 dan O_2 akan tetapi

kecepatan reaksi ini akan mengalami peningkatan yang luar biasa akibat kerja enzim superoksida dismutase.

Reaksi superoksida dismutase: $O_2 + O_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$

Dalam keadaan normal, jumlah eritrosit yang berstimulasi dipertahankan dalam keadaan seimbang antara produksi yang berlangsung disumsum tulang dan peristiwa kematian eritrosit pada sistem aliran darah. Dalam keadaan sehat, setiap 24 jam akan dihancurkan 1 % dari jumlah eritrosit yang bersirkulasi dan diganti oleh sel yang baru dalam jumlah yang sama.

Pada leukosit memfagosit mikroorganisme yang merupakan refleksi utilisasi oksigen yang sangat meningkat disertai produksi besar derivat relatif (O_2 , H_2O_2 , OH, dan OCl), yang dikenal dengan istilah ledakan respiratorik (*respiratory burst*). Dalam peristiwa *respiratory burst* memiliki komponen-komponen leukosit antara lain :

1). NADPH oksidase (NADPH O_2 – oksidoreduktase). 2). Sitokrom tipe b; mampu mereduksi oksigen menjadi superoksida, karena pengaruh oksidase dan sitokrom, maka oksigen direduksi menjadi superoksida, kemudian superoksida secara spontan dengan bantuan enzim superoksida dismutase diubah menjadi H_2O_2 . Reaksi superoksida dismutase : $O_2 + O_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
Superoksida yang terbentuk disalurkan ke luar sel atau ke dalam phagolisosom. Di dalam phagolisosom, bakteri dibunuh oleh adanya aksi kombinasi dan pH meninggi, ion superoksida, derivat oksigen lain, peptida/protein lain yang bersifat bakteri.

Dalam sebuah sel yang normal terdapat keseimbangan pro-oksidan dengan antioksidan yang tepat. Namun demikian, keseimbangan ini dapat bergeser ke arah pro-oksidan ketika produksi spesies oksigen tersebut sangat meningkat, atau ketika kadar antioksidan menurun (misalnya akibat inaktivasi enzim yang terlibat dalam pengeluaran spesies oksigen dan akibat keadaan yang menyebabkan kadar antioksidan yang rendah. Keadaan ini dinamakan “Stress Oksidatif” dan dapat mengakibatkan kerusakan sel yang serius jika berlangsung lama. Keadaan stress oksidatif ini mendasari terjadinya berbagai penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas seperti penyakit kanker.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak etanol daun *G. segetum* yang di dalamnya terkandung senyawa flavonoid pada dosis setara dosis setara 185,2 mg/kgbb dan 277,8 mg/kgbb dapat menaikkan jumlah

eritrosit pada *M. musculus*, pemberian pada dosis setara dosis 277,8 mg/kgbb mampu menaikkan lebih tinggi.

2. Pemberian ekstrak etanol daun *G. segetum* yang di dalamnya terkandung senyawa flavonoid pada dosis setara dosis setara 185,2 mg/kgbb dan 277,8 mg/kgbb dapat menurunkan jumlah leukosit pada *M. musculus*, pemberian pada dosis setara dosis 277,8 mg/kgbb mampu menurunkan lebih besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Saputra dkk. 2002. *Terapi Biologi Untuk Kanker*. Airlangga University Press : Surabaya
- Hembing. 2005. *Sehat Dengan Daun Dewa*.
<http://www.kompas.co.id/kesehatan/news/0207/08/011205.htm>
- Puspita, E., Sundaryono, A., Ruyani, A., 2005. *Isolasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Benalu (Dendrophthoe pentandra (L) Miq dan Uji Teratogenesis Terhadap M. musculus (Mus musculus)*. Tidak dipublikasikan Prodi Pend. Kimia Universitas Bengkulu : Bengkulu
- Rumanta, M., 1994, *Pengaruh Asam Metoksi Asetat terhadap Organ Reproduksi dan Fertilitas Mencit Albino (Mus musculus) Swiss Webster Jantan*. ITB. Bandung
- Kadir, M. 2002. *Penuntun Praktikum Fisiologi Hewan*. UNIB : Bengkulu
- Sujatmoko, 2002. *Peranan Antioksidan Terhadap Kesehatan*.
<http://www.mailarchive.com/milisnakita@news.gramediamajalah.com/msg010617.html>
- Yoelanda,U, Sundaryono, A, Ruyani, A., 2006. *Isolasi senyawa flavonoid dari daun dewa (Gynura segetum (lour).merr.) dan uji pengaruhnya terhadap jumlah eritrosit maupun leukosit mencit (Mus musculus)*. Tidak dipublikasikan, Prodi Pend. Kimia Universitas Bengkulu.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Institut Teknologi Bandung : Bandung
- Priadi, A. 2004. *Budidaya Daun Dewa Tanaman Berkhasiat Obat*. Kanisius : Yogyakarta
- Sukardiman. 1997. *Uji Antikanker Ekstrak Heksan Daun Dewa (Gynura procumbens (Lour) Merr)*. Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XII : Bandung
- Astawan, Made. 2004. *Kiat Menjaga Tubuh Tetap Sehat*. PT Tiga Serangkai Pustaka Mandiri: Solo